Pesquizas sobre a natureza dos anaplasmas [1]

pelos

Drs. Ezequiel Caetano Dias e Henrique de Beaurepaire Aragão

(Assistentes)

(Com a estampa 33 e 34).

Untersuchungen ueber die Natur der Anaplasmen [1]

von

Drs. Ezequiel Caetano Dias und Henrique de Beaurepaire Aragão

Assistenten.

(Mit Tafl. 33 u. 34).

Apezar de ser o campo predileto das pesquizas parasitolojicas, e apezar de continuadamente estudado pelos hematolojistas, o sangue apresenta ainda não pequeno numero de questões dificultosas e controvertidas que desafiam o esforço dos investigadores.

Entre estas, devido em grande parte a rapida divulgação que teve pelo mundo cientifico, está o problema da orijem e da natureza dos chamados *anaplasmas*.

Anaplasmas são pequenos corpos esfericos, com aspeto de cocos, immoveis, de estrutura homojenea, medindo de 0,1 μ a 0,5 μ de diametro, tendo as reações corantes da cromatina e desprovidos de protoplasma; costumam ser encontrados nas hematias de al-

(1) O presente trabalho é complemento de outro, com o mesmo titulo por nós publicado no nº 16 do Brazil—Medico de 22 de Abril de 1913.

Obwohl das Blut das bevorzuegte Feld fuer parasitologische Untersuchungen ist, und obwohl es fortwaehrend von den Haematologen erforscht wird, stellt es noch eine Reihe von schwierigen und viel bestrittenen Fragen welche sich dem Fleisse der Forscher darbieten.

Zu diesen gehoert, was der schnellen Verbreitung in der wissenschaftlichen Welt zuzuschreiben ist, die Frage des Ursprunges und der Natur der sogenanten *Anaplasmen*.

Anaplasmen sind kleine, sphaerische Koerper, die wie Coccus aussehen; sie sind unbeweglich, von homogener Struktur, mit einem Durchmesser von 0,μ1 bis 0,μ5; sie haben die chromatinische Faerbereaktion, waehrend

(1) Diese Arbeit ist die Ergaenzung einer anderen, die unter demselben Titel von uns in der Nummer 16, des «Brazil-Medico» am 22. April 1913 veroeffentlicht worden ist.

guns mamiferos, especialmente nas dos bovinos acometidos de piroplasmose. Eles foram a principio considerados como formas do ciclo evolutivo da *babesia bigemina* (SMITH e KILBORN, KNUTH e outros) mas, contra esse modo ver, se insurjiu A. THEILER, bateriolojista do departamento de agricultura do Transvaal, que preferiu conferir-lhes as prerogativas dum protozoario diferente do germe da tristeza e causador duma nova doença do gado bovino.

A nova molestia denominou THEILER de *anaplasmose* designação derivada de *anaplasma*, nome que ele deu aos corpusculos encontrados no sangue e anteriormente conhecidos por *marginal points*, *coccus like bodies* etc.

Proseguindo THEILER em suas pesquizas, verificou ainda a não filtrabilidade do virus, sua transmissão pelos carrapatos, e foi levado a admitir a existencia de duas formas do parasito a que chamou de *anaplasma marginale* e *anaplasma marginale* var. *centrale*, baseado na localização periferica ou central dos corpusculos. E, por supor que esta variedade é apenas causadora de uma forma de anaplasmose mais benigna, teve idea de aproveital-a para a vacinação contra a outra (*marginale*) que ele julga produzir uma molestia mais grave.

Ficou assim criada uma nova entidade morbida do boi, com sua sintomatolojia propria, com seu germe autonomo e com seu hematofago transmissor.

Reinando porém, na mesma rejião africana, diversas molestias do gado, e mais ainda, existindo simultaneamente nos mesmos individuos varios parasitos (piroplasmas, anaplasmas, espirochaetas, etc.) foi preciso um longo e paciente trabalho de THEILER para que ele pudesse entrever a nova molestia, naquele meio nosolojico intrincado.

Esse trabalho consistiu em numerosas e diferentes series de experiencias de que procuraremos resumir as principais. Uma dessas experiencias em que baseou o seu trabalho foi a seguinte: Em 3 vitelos nacidos no estabulo do laboratorio inoculou sangue de boi doente, oriundo de distrito de Karoo, no

das Protoplasma fehlt; man trifft sie in den Hematien einiger Saeugetiere, insbesondere in denen der Rinder, die von Piroplasmose betroffen sind.

Anfangs wurden sie als zum Evolutionscyklus der *Babesia bigemina* zugehoerig betrachtet (SMITH un KILBORN, KNUTH und andere), aber dieser Ansicht widersprach A. THEILER, Bakteriolog der Abteilung fuer Landwirtschaft in Transwaal, der sie als vom Virus der Piroplasmosen verschiedenen Protozoen und Erreger einer neuen Krankheit des Rindes ansah.

Dieser neuen Krankheit gab THEILER den Namen *Anaplasmose*, von *Anaplasma* hergeleitet, womit er die im Blute beobachteten Koerperchen bezeichnet, die vorher als *marginal points, coccus like bodies* u. a. bekannt waren.

Ausserdem stellte THEILER in seinen Untersuchungen fest, dass der Virus nicht filtrierbar ist und dass er durch die Zecken uebertragen wird, und wurde zu der Annahme bewogen, dass es zwei Formen des Parasiten giebt, denen er die Namen *Anaplasma marginale* und *Anaplasma marginale, var. centrale* gab, indem er die peripherische oder zentrale Lokalisation der Koerperchen zu Grunde legte. Da er der Ansicht war dass diese Varietaet nur die benigne Form der Anaplasmose hervorruft, beschloss er sie zur Vakzination gegen die andere *(marginale)* zu verwenden, von der er glaubt dass sie eine schwerere Krankheit erregt. So entstand eine neue Rinderkrankheit, mit eigener Symptomatologie, selbstaendigem Virus und seinem blutsaugenden Uebertraeger.

Da jedoch demselben afrikanischen Gebiet verschiedene Viehkrankheiten herrschen, und ausserdem in denselben Individuen verschiedene Parasiten zugleich bestehen (Piroplasmen, Anaplasmen, Espirochaeten u. s. w.) erforderte es muehsame und ausdauernde Arbeiten von THEILER bis es ihm gelang die neue Krankheit in jenem so schwierigen nosologischen Milieu zu erfassen. Diese Arbeiten bestanden aus zahlreichen verschiedenen Serien von Experimenten, von denen wir die wichtigsten kurz wiedergeben werden.

Transvaal. No sangue de 2 desses vitelos apareceram o *piroplasma bigeminum* e subsequentemente, anaplasmas: e no 3º deles somente anaplasmas foram vistos no sangue periferico. Com o sangue deste vitelo, por meio de inoculações sucessivas, foram transmitidos os anaplasmas, de boi a boi, de modo a se obter 4 gerações de anaplasmose experimental.

Outra experiencia, tambem reputada de muito valor, foi a da vacinação, contra a tristeza, de bovinos importados da Europa, e que julgados immunes contra a piroplasmose, foram injetados com sangue de gado sul-africano. O aparecimento de *anaplasmas* nesses animais, sem a vericação de *babesias*, foi considerado uma prova concludente da autonomia do parasito.

A transmissão da anaplasmose, por meio de carrapatos *Rhipiciphalus simus* e *Boophilus decoloratus* tambem foi tentada, e ainda uma vez, em vista do resultado favoravel das experiencias, concluiu THEILER pela natureza parasitaria dos *anaplasmose*.

Esses e outros trabalhos realizados em Pretoria, tiveram larga divulgação pelos centros cientificos, e houve logo diversos pesquizadores que confirmaram os trabalhos de THEILER, assinalando a existencia de corpusculos marjinais nos bovinos, ao passo que outros demonstravam a existencia de corpusculos absolutamente analogos no sangue de outros mamiferos. Entre estes encontram-se BALFOUR que observou-os em burros, JOWETT em ratos e gatos, sãos e tripanosomiados, SCHELHASE em carneiros, GILRUTH em varios marsupiais e o proprio THEILER em cavalos, além de algumas outras verificações de menor importancia.

Apezar de todas estas contribuições, alguns investigadores receberam com septicismo o novo protozoario, que desprovido de protoplasma, estabelecia já uma exceção entre os seres desse grupo. Tambem houve outros que se insurjiram contra a natureza parazitaria do *anaplasma*: SCHILLING-TORGAU, entre estes, exibiu provas que se contrapunham as ideas de THEILER. Assim é que, injetando ele fenilhidrazina em cobaias, obteve corpussemelhantes aos *anaplasmas*, tendo tambem

Eins dieser Experimente, die er seiner Arbeit zu Grunde legte ist folgendes: Er inokulierte 3 Kaelbern, die im Stalle des Laboratoriums geboren waren, Blut eines kranken Ochses, der aus dem Distrikt Karoo im Transvaall stammte. Im Blute zweier dieser Kaelben erschienen *Piroplasma bigeminum* und in der Folge Anaplasmen; nur in dem dritten wurden bloss Anaplasmen im peripherischen Blut beobachtet. Mit dem Blute dieses Kalbes wurde vermittelst fortgesetzten Inokulationen Anaplasmen von Rind auf Rind uebertragen, sodass man auf diese Weise vier Generationen von Experimental-Anaplasmose erhielt.

Ein anderes Experiment, ebenfalls von grossem Wert, ist das der Vakzination gegen Babesiose der aus Europa importierten Rinder, denen, da sie als immun gegen Piroplasmose galten, Blut suedafrikanischer Viehes eingespritzt wurde. Das Erscheinen von *Anaplasmen* in diesen Tieren, ohne das *Babesien* vorhanden waeren, wurde als untrueglicher Beweis fuer die Autonomie des Parasiten angesehen.

Die Uebertragung der Anaplasmose, durch Zecken—*Rhipizephalus simus* und *Boophilus decoloratus*—wurde versucht und THEILER schloss aus dem guenstigen Ausgang der Experimente dass die *Anaplasmen* Parasiten sind.

Diese und andere Arbeiten, die in Pretoria ausgefuehrt wurden, verbreiteten sich rasch in den wissenschaftlichen Kreisen, und alsbald traten Forscher auf, welche die Arbeiten THEILER's bestaetigten, und andere die Existenz von ganz analogen Koerperchen im Blute Verschiedenen Saeugetiere erwiesen. So haben BALFOUR bei Eseln, JOWETT bei gesunden und von Trypanosomen infizierten Ratten und Katzen, SCHELHASE bei Hammeln, GILRUTH bei verschiedenen Beuteltieren und THEILER selbst bei Pferden sie beobachtet, nicht zu reden von einigen anderen Nachweisen von geringer Bedeutung.

Trotz aller dieser Beitraege empfangen einige Forscher den neuen Protozoon recht skeptisch, da er infolge des Fehlens von Protoplasma, eine Ausnahme der zu dieser Gruppe gehoerigen Lebewesen bildete.

Andere bestritten die Parasiten-Natur des *Anaplasmas*; so brachte SCHILLING-TORGAU Beweise auf, die im Gegensatz zu den Ansichten THEILER's standen. Er spritzte

encontrado esses pseudoparasitos em gatos artificialmente infetados com disenteria amebiana.

Apezar destes primeiros ataques á doutrina de THEILER, grande numero de pesquizadores ainda se mostrava adepto delas e novos argumentos a favor eram a todo o instante, apresentados

Estava mais ou menos a questão neste ponto quando em 1912, resolvemos estudar o assunto, especialmente debaixo do ponto de vista em que o encarara SCHILLING-TORGAU, sem comtudo deixar de aprecial-o sob outros aspetos, igualmente interessantes e elucidativos do problema.

Trabalhos pessoais

Os nossos primeiros trabalhos consistiram em diferentes series de experiencias, inoculando em animais (cobaias, coelhos, cãis e bois.) diversos venenos como fenilhidrazina, nitrobenzol, acido pirogalico, saponina fosforo, *trypanblau*, etc.

O fosforo, em emulsões oleosas, e a saponina, não nos deram resultados interessantes. O mesmo aconteceu as experiencias feitas em diversos animais, inclusive bezerros, aos quais administravamos, *per os*, acido oleico sob a forma de oleo de oliveira.

Obtivemos porém magnificos resultados, com os envenenamentos produzidos pelas inoculações de substancias hemoliticas. Coelhos, cobaias, cãis e ratos, após 48 horas, mais ou menos, começavam a apresentar sinais evidentes de anemia, se traduzindo por diversas dejenerações, dos globulos vermelhos, especialmente basofilia, policromatofia, anisocitosis, poikilocitosis, hematias nucleadas, etc. e o aparecimento em muitas hematias, quer nas marjens quer no centro, de corpusculos com todos os carateres daqueles a que THEILER chamou de *anaplasmas*.

Graças á gentileza dos Drs. A. CARINI (de São Paulo), MARQUES LISBOA e O. MAGALHÃES (de Bello Horisonte) e MITCHELL (assistente do Dr. A. THEILER), pudemos confrontar preparados de anaplasma natural com os corpusculos obtidos arti-

naemlich Meerschweinchen Phenylhydrazina ein und erhielt so den Anaplasmen aehliche Koerperchen; auch bei kuenstlich mit Amoebendysenterie infizierten Katzen Konnte er sie beobachten.

Trotz dieser ersten Angriffe auf die Meinung THEILER's hielten doch noch eine grosse anzahl von Forcshem zu ihr, und immer wieder neue Argumenten traten auf.

Das war in grossen Zuegen der Stand dieser Frage, als wir 1912 beschlossen sie zu untersuchen, und zwar speziall vom Standpunkt SCHILLING-TORGAU's, ohne andere obenso interessante und aufklaerende Seiten der Frage aus den Augen zu lassen.

Persoenliche Arbeiten.

Unsere ersten Arbeiten bestanden aus verschiedenen Reihen von Experimenten bei denen wir Tieren (Meerschweinchen, Kaninchen, Hunden Rindern) mit verschiedene Gifte wie Phenylhydrazin, Nitrobonzol, Pyrogallussaeure, Saponin, Phosphor, Trypanblau, u. a., einspritzen. Phosphor, in oeligen Emulsionen, und Saponin, gaben keine interessanten Resultate, ebensowenig die Experimente die wir mit verschiedenen Tieren, u. a. mit Kaelbern, machten, denen wir, *per os*, Oelsaeure unter der Form von Olivenoel gaben. Wir hatten jedoch glaenzende Ergenisse durch den Inokulation von haemolytischen Substanzen verursachten Vergiftungen. Kaninchen, Meerschweinchen, Hunde und Ratte begannen nach ungefaehr 48 Stunden sichtbare Zeichen von Anemie zu zeigen, die sich durch verschiedene Degenerationen der roten Blutkoerperchen hauptsaechlich Basophil, Polychromatophilie, Anisocytosis, nukleaere Hematie, u. s. w. und durch das Erscheinen in vielen Hematien, in der Peripherie und im Zetrum, von Koerperchen, die alle Charaktere derjenijen, die THEILER *Anaplasmen* bennante, aufwiesen.

Dank der Freundlichkeit den Herren Dr. A. CARINI (von S. Paulo), MARQUES LISBOA und O. MAGALHÃES (von Bello Hrizonte) und MITCHELL (Assistent des Herrn Dr. A. THEILER) konnten wir Praeparate

ficialmente, por meio dos venenos hemoliticos.

As reações corantes, as dimensões, a morfolojia, a falta de estrutura, as pseudo-formas de divisão, tudo se verifica, de modo perfeitamente igual, no sangue de boi anaplasmoso e no sangue do animal experimentalmente anemiado. Nas estampas 33. e 34 deste trabalho, em reproduções de desenhos coloridos e photograficas, de anaplasmas naturais e artificiais, apresentamos um amplo material para confirmação do que afirmamos.

O coelho, a cobaia e o cão são os animais que mais se prestam a essas experiencias, e os venenos com que conseguimos melhores resultados foram o nitrobenzol, o acido pirogalico e a fenilhidrazina. O acido pirogalico foi empregado na dose de 0,1 cc por kilogramma de animal e as outras duas substancias, em doses variaveis, de 0,01 a 0,1 cc.

Essas experiencias exijem o maximo cuidado. As injeções quer subcutaneas quer intravenosas, devem ser feitas cautelosamente, porque o exito depende em grande parte, da resistencia do animal. Si a dose é excessiva sobrevem a morte rapidamente, sem o aparecimento das dejenerações globulares, si é deficiente a dose, tambem são nulos os resultados. E preciso portanto um meio termo, uma dose ou uma serie de doses compativeis com a vida do animal e com a reação hematopoietica do individuo.

Parece tambem que a qualidade do veneno tem certa influeucia sobre a produção dessas anemias, variando de para outro animal.

O acido pirogalico, por exemplo, que no cão dá tipos de envenenamento tão interessantes, acompanhados quasi sempe, da formação de *anaplasmns* marjinais e centrais, não nos forneceu em outros mamiferos resultados apreciaveis.

Com a saponina tambem nada pudemos obter, máo grado a sua ação altamente toxica para todos os animais em que a experimentamos.

Animados com as experiencias em pequenos mamiferos, quizemos ainda tentar uma ultima prova da natureza hematica dos *ana-*

natuerlichen Anaplasmas mit den kuenstlich durch haemolytische Gifte erzeugten Koerperchen vergleichen.

Die Faerbereaktionen, die Dimensionen, die Morphologie, das Fehlen von Struktur, die Pseudoteilungsformen, alles trifft auf dieselbe Weise im Blute des mit anaplasmen infizierte ochsen wie in dem des experimentell anaemisierten Tieres zu

In den Tafel n. 33 und 34 dieser Arbeit, die Reproduktionen von farbigen Zeichnungen und Photographieen sind, legen wir umfassendes Material zur Bekraeftigung unserer Behauptung vor.

Das Kaninchen und das Meerschweinchen sind die Tiere, die sich am besten fuer diese Experimente eignen, und die Gifte, mit denen wir die besten Resultate erzielten, sind Nitrobenzol, Pyrogallussaeure und Phenylhydrazin.

Die Pyrogallussaeure wurde in der Dosis 0,1 cc. fuer jedes Kilo des Gewichtes des Tieres, und die zwei anderen in verschiedeneu Dosen von 0,01 cc. bis 0,1 cc. verwendet.

Diese Experimente erfordern grosse Vorsicht. Sowohl die subkutanen als auch die intravenoesen Injektionen muessen sorgfaeltig gemacht werden, weil das Resultat zum grossen Teil von der Widerstandsfaehigkeit des Tieres abhaengt. Bei einer zu grossen Dosis tritt rasch der Tod ein, ohne Dejeneration der Blutkarpchen, und bei einer zu schwachen Dosis ist das Ergebnis negativ. Es ist deshalb ein Mittelweg erforderlich, eine Dosis, oder eine Reihe von Dosen, die dem Zustande des Tieres und seiner haematopoietischen Reaktion entspricht.

Es hat den Anschein dass die Art des Giftes einen Einfluss auf die Erzeugung dieser Anemien ausuebt, und bei verschiedenen Tieren verschieden ist.

Pyrogallussaeure zum Beispiel ergiebt beim Hunde ueberaus interessante Vergiftungstypen, die in der Regel von Marginale und Centralanaplasmenbildung begleitet sind, waehrend sie bei anderen Saeugetieren zu keinen nennenswerten Ergebnissen fuehrte.

plasmas, procurando obtel-os em bois, por meio de venenos hemoliticos.

A experimentação nestes animaes é a mais dificultosa possivel, porque eles são dotados de tal sensibilidade, são tão pouco resistentes a ação dos venenos hemoliticos, que facilmente morrem sem apresentar modificações hematolojicas interessantes

Mas, a despeito dessa grande dificuldade, conseguimos mais de uma vez determinar-lhes reações hematopoieticas, com o aparecimento de anaplasmas tipicos no sangue. (est 33 fig. 2) Estes resultados conseguimos primeiramente com fenilhidrazina e depois com o *trypanblau*. Esta ultima substancia é preferivel por ser menos toxica e, por isso mais tolerada pelos bovinos. Ao fim deste trabalho damos protocolos de algumas das nossas experiencias que permittem acompanhar facilmente a marcha delas.

Além das pesquizas com o fim de provocar artificialmente anaplasmose nos animais acima mencionados, tambem procuramos verificar em que animais se poderia encontrar, já normalmente, esses corpusculos. A esse respeito as nossas observações confirmam os fatos já assinalados da existencia desses corpusculos no sangue de diversos animais, tendo nós os encontrado em bois, cavalos, cãis, carneiros, coelhos, gato domestico, gato do mato, cobaia, etc. Tambem eles foram vistos, com frequencia, no sangue periferico de animais recemnacidos. No primeiro caso são consequencia de estados morbidos diversos, principalmente verminoses a cujos venenos se atribue uma ação hemolitica o que é confirmado pelos trabalhos de WEINBERG. Nos animais recemnacidos se explica o fato, pela maior atividade dos organs hematopoieticos.

A propria anaplasmose ovina já foi atribuida, por BEVON, á presença de vermes no intestino desses animais. Quanto a chamada anaplasmose bovina muito comum em todo o Brazil, estamos convencidos que o piroplasma é sempre o causador dessas epizootias ou enzootias.

Nas cercanias de Bello-Horisonte, em Minas, observamos alguns fatos que muito

Mit Saponin erreichten wir auch nichts, trotz seiner hoechst toxischen Wirkung auf alle Tiere, mit deneu wir Versuche anstellten.

Von den Experimenten mit kleinen Saeugetieren ermutig, liessen wir es auf einen letzten Beweis fuer die haematische Natur der *Anaplasmen* ankommen, indem wir versuchten, dieselbeu in Rindern vermittelst haemolytischer Gifte zu erzielen.

Die Versuche mit diesen Tieren sind die denkbar schwierigsten, weil sie eine so grosse Sensibilitaet besitzen und so wenig widerstandsfaehig gegen haemolytische Gifte sind dass sie vielfach sterben ohne interessante haematologischeVeraenderungen aufzuweisen.

Trotz dieser grossen Schwierigkeit jedoch gelang es uns verschiedene Male, in ihnen haematopoietische Reaktionen mit Erscheinung von typischen Anaplasmen im Blute hervorzurufen (Taf. 33, Fig. 2). Diese Ergebnisse haben wir erst mit Phenylhydrazin und dann mit Trypanblau erreicht. Letztere Substanz ist vorzuziehen, da sie nicht so giftig und daher von den Rindern besser zu ertragen sind. Am Schluss dieser Arbeit geben wir das Protokoll einiger Experimente wieder, sodass es leicht ist, diese Schritt fuer Scritt zu begleiten.

Ausser den Untersuchungen ueber die kuenstliche Bildung von Anaplasmen in den erwaehnten Tieren, veranstalten wir auch andere, um zu erforschen, in welchen Tieren man normalerweise diese Koerperchen antreffen koenne. In dieser Beziehung bekraeftigen unsere Beobachtungen die schon erwaehnte Tatsache der Existenz dieser Koerperchen im Blute der Rinder, Pferde, Hunde, Hammel, Kaninchen, Hauskatzen, Waldkatzen Meerschweinchen, u. a. Sie wurden auch haeufig im peripherischen Blute von neugeborenen Tieren beobachtet. Im ersten Falle sind sie die Folge von verschiedenen Krankheitszustaende, hauptsaechlich durch Wuermer hervorgerufenen, deren Giften man die haemolytische Wirkung zuschreibt. was auch durch die Forschungen WEINBERG's bestaetigt wird. In neugeborenen Tieren erklaert sich die Tatsache durch die groessere Aktivitaet der haematopoietischen Organe.

Selbst die Anaplasmose der Schafe wurde von BEVON der Existenz von Wuermern im Darme dieser Tiere zugeschrieben. Was die sogennante Rinderanaplasmose, die so haeufig in ganz Brazilien ist, betriff, so sind wir ueberzeugt, dass der Piroplasma der einzige Erreger dieser Epizootien und Enzootien ist.

In der Umgebung von Bello-Horizonte in Minas, haben wir einige Faelle beobachtet,

depõem a favor do nosso modo de ver: Assim por exemplo, gado de raça, importado da Europa, após 2 anos de permanencia nos campos, apareceu com febre irregular, emagreceu muito e começou a apresentar anaplasmas no sangue. As pesquizas de piroplasmas foram então, baldadas por completo; um dia porém, morre um dos animais e no sangue dele se encontram bastantes piroplasmas. E evidente que se tratava dum caso de piroplasmose em que os parasitos, durante muito tempo, permaneceram nos organs centrais, sem vir a periferia ou ai aparecendo, em tão pequeno numero, que escaparam aos exames feitos durante a vida do animal. Esta predileção das babesias pelos organs centrais, já é conhecida e é analoga á observada no hematozoario do impaludismo, principalmente na forma tropical.

Interpretação dos resultados

A vista das experiencias anteriores e das nossas proprias, podemos tirar ilações, bem fundadas, á respeito da natureza não parasitaria dos *anaplasmas*.

Alem disso ha fatos que vem corroborar a nossa opinião. Estão nessas condições as experiencias de K. F. MEYER que, inoculando sangue anaplasmoso em bois sensiveis, obteve casos que supunha de anaplasmose pura. Entretanto, pesquisando demoradamente, poude encontrar, no meio de muitos anaplasmas, rarissimas babesias. O sangue desses animaes, inoculado a outros, através de passajens sucessivas reproduziu sempre o mesmo tipo de molestia, que seria uma anaplasmose tipica, para os que acreditam na especificidade dos chamados *anaplasmas*.

Não menos interessante é a verificação do Dr. PARREIRAS HORTA, Chefe de serviço de Veterinaria do Ministerio da Agricultura. Este nosso colega teve em observação um boi que só apresentou, durante muito tempo, *anaplasmas* no sangue periferico: era portanto um caso a ser considerado de anaplasmose pura morto, porém, o animal, foram encontrados nos organs internos, principalmente no figado e nos rins, numeros piro-

die sehr zu Gunsten unserer Ansicht sprechen: So zum Beispiel wurden aus Europa importiere Rassenrinder nach zweijaehrigen Aufenthalt auf Wiesen von unregelmaessigem Fieber befallen, verloren an Gewicht und wiesen Anaplasmen in Blute auf. Untersuchungen auf Piroplasmen waren vergeblich; als jedoch eines der Tiere starb, wurden in seinem Blute zalhreiche Piroplasmen beobachtet. Augenscheinlich war es eine Piroplasmose, bei welcher die Parasiten lange in den Centralorganen blieben, ohne an die Peripherie zu treten, oder doch in so kleiner Anzahl, dass die Untersuchungen bein lebendigen Tiere negativ waren. Diese Vorliebe der Babesien fuer die Centralorgane ist schon bekannt, und wird auch analog im Haematozoon der Malaria, hauptsaechlich in der tropischen Form, beobachtet.

Auslegung der Ergebnisse

Angesichts der frueheren und unserer eigenen Uutersuchungen duerfen wir wohl mit Recht auf die nicht parasitaere Natur der Anaplasma schliessen. Ausserdem giebt es anch andere Faelle, die unsere Ansicht bestaerken. Zu diesen gehoeren die Versuche von K. F. MEYER, der durch Inokulation von anaplasmatischem Blut in empfaengliche Rinder reine Anaplasmose erhalten zu haben glaubte. Durch langwierige Nachforschungen stellte er jedoch die Existenz ueberaus wenigen Babesien inmitten vieler Anaplasmen fest. Die Inokulation des Blutes dieser Tiere in andere, in fortlaufenden Uebertragungen, rief immer denselben Krankheitstypus hervor, der somit eine typische Anaplasmose waere, wenigstens fuer die Anhaenger der Specificitaet der *Anaplasmen*.

Nicht weniger interessant ist die Konstatierung des Herrn. Dr. PARREIRAS HORTA, Abteilungschef im Veterinaerdienste des Landwirtsministeriums. Dieser Herr Kollege stellte Beobachtungen mit einem Ochesen an, der lange nur *Anaplasmen* im peripherischen Blute aufwies; es handelte sich somit um einen Fall, der als reine Anaplasmose zu be-

plasmas, que jamais tinham sido vistos na circulação.

As experiencias de LAVERAN e as de LEVADITI, recentemente relatadas na Sociedade de Patolojia Exotica, e das quais tivemos notícia, por carta do Dr. OSWALDO CRUZ, trazem a mais completa confirmação ao nosso modo de considerar os *anaplasmas* como simples alterações do sangue de natureza anemica.

Além das pesquizas já citadas, foi objeto de cuidados de nossa parte, um estudo comparativo dos anaplasmas naturais e artificiais, sob o ponto de vista da sua forma, estrutura e das suas reações corantes: e chegamos á conclusão da identidade entre uns e outros. Não ha pois um só carater que os distinga.

A ação do *trypanblau*, sobre tudo, tem uma significação importante. E sabido que o metodo eficaz de immunisação contra a tristesa consiste em inocular sangue virulento e, depois dum certo tempo, 1 ou 2 grammas de *trypanblau* diluido em 100 ou 200 cc de agua distilada. Tivemos ocasião de acompanhar algumas dessas immunisações e observamos que os animais, no fim de poucos dias, após a 2º inoculaçãq de *trypanblau*, apresentavamse com numerosos *anaplasmas* quer marjinais quer centrais, isto em desacordo com as proprias observações de THEILER que atribue a anaplasmose uma incubação muito longa em geral nunca menor de 24 dias.

Já conhecemos a ação do *trypanblau* sobre o sangue e sabemos que só esse veneno basta para determinar o aparecimento de corpusculos intraglobulares. A agua distilada em injeção intravenosa tem igualmente ação hemolisante. Tudo isto vem provar que a ação hemolitica do *trypanblau* principalmente, acelera o aparecimento dos *anaplasmas*, e é por isso, que nas immunisações contra a piroplasmose, por meio do *trypanblau*, aqueles corpusculos aparecem com um periodo de incubação muito menor do que o assinalado por THEILER, para a anaplasmose pura. Esse nosso modo ver é confirmado pelo pelo proprio THEILER, que injetando *trypanblau* e *trypanrot* em burros piroplasmosos, verificou, no sangue desses animaes, o aparecimento de

trachten war. Nach dem Tode des Rindes jedoch wurden in den inneren Organen, hauptsaechlich in der Leber und in den Nieren, zahlreiche Piroplasmen gefunden, die vorher nicht in der Zirkulation beobachtet worden waren.

Die Experiment LAVERAN's und LEVADITI's, kuerzlich in der Gesellschaft fuer exotische Pathologie berichtet, und von denen uns Herr Dr. OSWALDO CRUZ in einem Briefe benachrichtigt hat, bestaetigen vollkommen unsere Anschauung, die *Anaplasmen* als einfache Veraenderungen anemischen Blutes zu annehmen.

Ausser den erwaehnten Untersuchungen haben wir uns mit dem komparativen Studium der natuerlichen und kuenstlichen Anaplasmen, vom Gesichtspunkt der Form, Struktur und Faerbereaktion aus, beschaeftigt, und sind dabei zu dem Schlusse gekommen, dass sie identisch sind, ohne sich irgendwie zu unterscheiden.

Hauptsaechlich die Wirkung des Trypanblau hat eine grosse Bedeutung. Es ist bekannt dass die wirksamste Immunisationsmethode gegen die Piroplasmosen liegt in der Inokulation virulenten Blutes und nach einiger Zeit hundert oder zweihunder cubic centimenter einprozentiger Loesung von Trypanblau. Wir haben Gelegenheit gehabt einige solcher Immunisationen zu beobachten und konstatierten dabei, dass die Thiere nach wenigen Tagen, nach der zweiten Inokulation von Trypanblau, zahlreiche, sowohl marginale als auch zentralen *Anaplasmen* aufwiesen, was den selbst von THEILER gemachten Beobachtungen widerspricht, die Anaplasmose eine sehr lange Inokulation, von nie weniger als 24 Tagen beimisst.

Wir kennen schon die Wirkung des Trypanblau's auf das Blut und wissen dass dieses Gift allein genuegt um die Entstehung von intraglobulaeren Koerperchen hervorzurufen. Distilliertes Wasser in intravenoeser Injektion hat ebenfalls haemolytische Wirkung. Alles das beweist, dass hauptsaechlich die haemolytische Wirkung des Trypanblau das Erscheinen von *Anaplasmen* beschleunigt. Daher erscheinen auch bei der Immunisation gegen Piroplasmose durch Trypanblau jene Koerperchen in einer viel kuerzeren Inkubationsperiode als THEILER fuer die reine Anaplasmosen angiebt. Diese unsere Anschauung wird von THEILER selbst bestaetigt, der bei Injektion ven Trypanblau und Trypanrot in piroplasmotischen Ezeln, in Blute dieser Tiere das Erscheinen von intraglobulaeren Koerperchen ohne Protoplasma und mit

corpusculos intraglobulares, sem protoplasma, com as reações e os carateres dos *anaplasmas*. Ele acredita que esse fato pode ser explicado por uma ação especial do *trypanblau* sobre o protoplasma das babesias que ficaram assim reduzidas somente ao nucleo; considera os corpusculos assim obtidos como formas de resistencia do piroplasma, muito semelhantes aos *anaplasmas* os quais, filojeneticamente, diz se devem derivar daqueles. Tal opinião em muito pouco diverje da antiga concepção de SMITH e KILBORN a respeito da orijem dos *anaplasmas*, derivando-os dos piroplasmas.

Conclusões

Das nossas experiencias, observações e pequizas podemos concluir resumidamente:

1º O *anaplasma* não é um protozoario.

2º O *anaplasma* é um corpusculo de natureza hematica, produto de dejeneração dos globulos vermelhos.

3º O *anaplasma* é uma das dejenerações globulares decorrentes de certas anemias deteminadas por venenos hemoliticos natureza diversa.

4º Não existe a molestia denominada anaplasmose bovina que é, nos casos descritos por THEILER, uma forma clinica da piroplasmose. A anaplasmose dos outros mamiferos é devida a causas diversas.

Verificações

I Anaplasmose artifical (Fenilhidrazina)

Cão 8. 4 kilos. e 800 grs.

Dia 6–1—13. Inoculação subcutanea de 0,1 cc de fenilhidrazina.

Dia 7–1–13. Idem idem.

Dia 8–1–13. Idem de 0,3cc

Notam-se já diminuição de globulos vermelhos, basofilia, raras hematias nucleadas e rarissimos anaplasmas.

Dia 9–1–13. As mesmas alterações do dia anterior e mais descoramento dos estromas globulares e anisocitosis; anaplasmas mais abundantes.

den Reaktionen und den Eigenschatfen der *Anaplasmen* beobachtete. So glaubt THEILER diese Erscheinung mit einer eigenen Wirkung des Trypanblau's auf das Protoplasma der Babesien zu erklaeren, die su auf den Kern zusammenschrumpften; er betrachtet die so erhaltenen Koerperchen als Resistenzformen des Piroplasmas, sehr aehnlich den *Anaplasmen*, welche nach seiner Ansicht philogenetisch von jenen abstammen. Diese Ansicht unterscheidet sich sehr wenig von SMITH's und KILBORN's alter Auffassung der Urkunft der Anaplasma, die sie von den Piroplasmen abstammen liess.

Schluesse.

Von unseren Untersuchungen, Experimenten und Forschungen koennen wir auf folgendes schliessen:

1º Das *Anaplasma* ist kein Protozoar.

2º Das *Anaplasma* ist ein Koerperchen haematischer Natur, und ein Produkt der Degeneration der roten Blutkoerperchen.

3º Das *Anaplasma* ist ein der durch gewisse Anaemien verursachten globulare Degenerationen, die durch haemolytische Gifte verschiedener Natur hervorgerufen werden.

4º Es giebt keine Anaplasmose genannte Krankheit, sondern dieser von THEILER beschriebene Zustand ist eine klinische Form der Piroplasmose. Die Anaplasmose der Saeugetiere ist verschiedenen Ursachen zuzuschreiben.

Beobachtungen.

I. Kuenstlich erzeugt Anaplasmose (Phenylhydrozin) Hund 8. 4k800.

6–1–1913–Subcutane Inokulation von 0,1cc. Phenylhydrazin.

7–1–1913–Idem, idem.

8–1–1913—Idem 0,3 cc. Sichtbare Verminderung von roten Blutkoerperchen, Basophilie, wenige nukleaere Haematien und sehr wenige Anaplasmen.

9–1–1913–Dieselben Veraenderungen von vorigem Tage, und ausserdem Entfaerbung der globulaeren Stroma und Anisocytosis; Zunahme der Anaplasmen.

Dia 10–1–13. Acentuada diminuição dos globulos vermelhos basofia, anisocitosis, Poiquilocitosis, hematias nucleadas; numerosos anaplasmas marjinais e centrais.

Dia 11–1–13. Fenomenos de anemia ainda mais pronunciados, anaplasmas como no dia anterior.

Dia 12–1–13. Continuam os fenomenos de anemia o animal está muito enfraquecido e magro; apresenta grandes des coramento das mucosas.

Dia 13–1–13. O animal quasi já não se pode levantar de tão fraco e anemiado; os anaplasmas se apresentam em menor numero no sangue.

Dia 14–1–13. Morreu hoje este animal com todas as manifestações de profunda anemia. No sangue poucos anaplasmas.

II. Anaplasmose artificial. (Fenilhidrazina)

Cobaia 4. 400 grs.

Dia 12–1–13. Inoculação subcutanea de 0,01 cc de fenilhidrazina.

Dia 13–1–13. Idem, idem.

Dia 14–1–13. Idem de 0,03 cc.

O animal já se apresenta anemiado: basofilia e anisocitosis.

Dia 15–1–13. Evidente diminuição das hematias; intensa basofilia, anisocitosis e poiquilocitosis: hematias nucleadas e numerosos anaplasmas. O animal apresenta as mucosas descoradas.

Dia 16–1–13. Grande anemia, alterações globuleres ainda mais intensas do que no dia anterior: anaplasmas numerosos.

O animal se apresenta muito enfraquecido.

Dia 17–1–13. Morre o animal. Lesões tipicas de uma anemia intensa. Sangue e organs hematopoieticos muito dejenerados. Anaplasmas em menor numero que antes da morte.

10—1–1913–Merkbare Abnahme der roten Blutkoerperchen, Basophilie, Anisocytosis, Poikylocytosis, Haematien mit Kern; zahlreiche marginale und zentrale Aaplasmen.

11—1–1913–Noch staerkere Anemie symptomen, Anaplasmen wie am vorigen Tage.

12–1–1912–Noch immer Anemiesymptome; das Tier ist sehr schwach und mager; Entfaerbung der Schleimhaeute.

13–1—1913–Das Tier kann von lauter Schwaeche und Anemie nicht mehr aufstehen; im Blute weniger Anaplasmen.

14–1—1913–Das Tier starb mit allen Symtomen schwerer Anemie. Im Blute wenige Anaplasmen.

II. Kuenstlich erzeugte Anaplasmose. (Phenylhydrizin).

Meerschweinchen 4. 400 grs.

12–1–13–Subkutane Injektion von 0,01 cc. Phenylhydrazin.

13—1–13–Idem, idem.

14–1–13–Idem 0,03 cc.

Das Tier ist schon anemisch, Basophilie und Anisocytosis.

15—1–13–Sichtbare Verminderung der Anisocytosis und Poikylocytosis; nukleaere Haematien, zahlreiche Anaplasmen. Die Schleimhaeute sind entfaerbt.

16–1–13–Grosse Anemie, noch groessere Veraenderungen der Blutkoerperchen als am vorigen Tage; zahlreiche Anaplasmen. Das Tier zeigt grosse Schwaeche.

17–1–13–Das Tier stirbt. Typische Lesionen einer schweren Anemie. Das Blut und die haematopoidischen Organe sind degeneriert Anaplasmen in geringerer Anzahl als vor dem Tode.

Anaplasmas menos abundantes do que em vida.

III. Anaplasmose artificial. (Fenlhidrazina)

Coelho 5. 1800 grs.

Dia 3–1–13. Inoculação subcutanea de 0,01 cc de fenilhidrazina.

Dia 5–1–13. Idem, Idem.

Dia 6–1–13. O animal apresenta já alguns sintomas de anemia; basofilia, raras hematias nucleadas e raros anaplasmas.

Dia 7–1–13. Inoculação se 0,05 cc de fenilhidrazina. As alterações sanguinaes permanecem identicas ás da vesperá.

Dia 8–1–13. O animal apresenta hoje intensa anemia; está muito enfraquecido; poiquilocitose, basofilia e anisocitose muito accentuadas. Hematias nucleadas e numerosos anaplasmas

Dia 9–1–13. Morre o animal em extrema anemia. No sangue ainda ha bastantes anaplasmas.

IV. Anaplasmose artificial. (Nitrobenzol)

Coelho 7. 2200 grs.

Dia 8–1–13. Inoculação sub-cutanea de 0,05 cc de Nitrobenzol.

Dia 9–1–13. Idem, idem de 0,1 cc.

Dia 11–1–13. Diminuição de hematias; basofilia incipiente, raros anaplasmas.

Dia 12–1–13. Anemia muito augmentada; basofilia, anisocitose, poiquilocitose, hematias nucleadas; anaplasmas abundantes.

Dia 13–1–13. Anemia ainda mais pronunciada do que no dia anterior; grande poiquilocitose, descoramento dos estromas globulares; numerosos anaplasmas.

Dia 14–1–13. A anemia continua intensa assim como as alterações globulares; anaplasmas menos numerosos.

III. Kuenstlich erzeugte Anaplasmosis. (Phenylhydrizin). Kanninchen 5 1800 grs..

3–1–13–Subkutane Inokulation von 0,01 cc. Phenylhydrazin.

5–1–13–Idem, idem.

6–1–13–Das Tier weist schon einige Anemiesymptome auf. Basophilie, sehr wenige nukleaere Haematien und Anaplasmen.

7–1–13–Inokulation von 0,05 cc. Phenylhydrazin. Die Blutveraenderungen sind dieselben wie am vorigen Tage.

8–1—13–Das Tier weist grosse Anemie auf; grosse Schwaeche; sehr deutliche Poikylochtosis, Basophilie ind Anisocytosis. Nukleaere Haematien und zahlreiche Anaplasmen.

9–1–13–Das Tier stirbt in aeussersten Anemie. Im Blute noch zahlreiche Nuclecere hematien und Anaplasmen.

9–1–13–Das Tier stirbt in aeusserster Anemie. Im Blute noch zahlreiche Anaplasmen.

IV. Kuenstlich erzeugte Anaplasmosis. (Nitrobenzol). Kaninchen 7. 2.200 grs.

8–1–13–Subkutane Inokulation von 0,05 cc. Nitrobenzol.

9–1–13–Idem, 0,1 cc.

11–1–13–Verminderung der Haematien; Anfang von Basophilie; seltene Anaplasmen.

12–1–13–Viel groessere Anemia; Basophilie, Anisocytosis. Poilylocytosis, nukleaere Haematien; zahlreiche Anaplasmen.

13–1–13–Noch groessere Anemie als am vorigen Tage; grosse Poikyloscytosis; Entfaerbung des globulaeren Stromas; zahlreiche Anaplasmen.

14–1–13–Die Anemie dauert unvermindert an, ebenso die Blutveraenderungen; Anaplasmen weniger zahlreich.

Dia 15–1–13. Diminue a anemia; dejenerações globulares menos intensas; anaplasmas em pequeno numero.

Dia 16–1–13. Os fenomenos de anemia desaparecem; já são raros no sangue os anaplasmas.

Dia 17–1–13. O animal se acha quasi restabelecido do envenenamento; são minimas as alterações do sangue; ainda se encontram rarissimos anaplasmas.

Dia 20–1–13. O sangue do animal se pode considerar normal.

V. Anaplasmose artificial (Acido pirogalico). Cão A. 5 kilos.

Dia 24—7—13. Inoculação subcutanea de 10 cc de solução de acido pirogalico a 5 %.

Dia 25–7–13. Idem, idem de 14 cc da mesma solução.

Dia 26–7–13. O animal não foi observado hoje.

Dia 27–7–13. O animal apresenta sinais de evidente anemia; mucosas descoradas, sangue fluido, anisocitose, basofilia e hematias nucleadas. bastantes anaplasmas.

Dia 28–7–13. Persiste a degeneração globular; Diminuição um pouco acentuada dos anaplasmas.

Dia 29–7–13. Diminuição dos anaplasmas.

Dia 30–7–13. Diminuição dos anaplasmas e das hematias nucleadas; ainda ha dejeneração globular, principalmente policromatofila. Anemia diminuida.

Dia 31–7–13. Rarissimos anaplasmas; hematias quasi normais.

Dia 1–8–13. Rarissimos anaplasmas e hematias nucleadas; raras ematias com dejeneração policromapofila; grande formação de plaquetas sanguineas.

Dia 2–8–13. O animal é de novo inoculado com 2 cc duma solução acido pirogalico a 40%. No sangue do animal ainda ha algumas hema-

15–1—13—Die anemie nimmt ab; die Degeneration der Blutkoerperchen schwaecher; Anaplasmen in kleiner Anzahl.

16–1–13–Die Anemiesymptome verschwinden; das Blut weist sehr wenige Anaplasmen auf.

17–1–13–Das Tier ist fast von der Vergiftung wieder hergestellt; die Bluts veraenderungen sind unbedeutend; noch sind ueberaus seltene Anaplasmen da.

20–1–13–Das Blut des Tieres kann als normal angesehen werden.

V. Kuenstlich erzeugte Anaplasmosis (Progyallussaeure). Hund A. 5 kg.

24–7–13–Subkutane Inokulation von 10 cc. 5--procentigen Pyrogallussaeureloesung.

25–7–13–Idem 14 cc. derselben Loesung.

26—7–13–Ohne Beobachtung.

27–7–13—Das Tier weist Zeichen erklaerter Anemie auf; entfaerbte Schleimhaeute, fluessiger Blut, Anisocytosis, Basophilie und nukleaere Haematien. Zahlreiche Anaplasmen.

28–7–13–Die Globulaerdegeneration dauert an; merkbare Verminderung der Anaplasmen.

29–7–13–Verminderung der Anaplasmen.

30–7–13–Verminderung der Anaplasmen und der nukleaereu Haematien; noch immer Globulaerdegeneration, hauptsaechlich Polychromatophilie vorhanden. Verminderte Anemie.

31–7–13–Sehr seltene Anaplasmen; Haematien beinahe normal.

1–8–13–Sehr seltene Anaplasmen und nukleaere Haematien; seltene Haematien mit polychromatophiler Degeneration. Bildung vieler Blutplaettchen.

2–8–13–Neue Inokulation von 2 cc. 40–porcentiger Pyrogallussaeuroloesung. Im Blute sind noch einige degenerierten Haematien, sehr wenige nukleaere und noch we-

tias dejeneradas, raras nucleadas e rarissimos anaplasmas.

Dia 3–8–13–Aparecimento de Anaplasmas em maior numero assim como de hematias nucleadas.

Dia 5–8–13. Anaplasmas geralmente grandes, hematias nucleadas basofilia.

Dia 6–8–13. Raros anaplasmas, algumas hematias nucleadas.

Dia 7–8–13. Permanecendo o mesmo estado de dejeneração sanguinea o animal foi inoculado com 1 cc de solução de acido pirogalico a 5 %.

Dia 8–8–13. Não havendo alteração alguma do sangue foi o animal inoculado com 2 cc duma solução de saponina a 1%.

Dia 9–8–13. Morreu o animal com evidentes sinais de anemia; nenhuma alteração do sangue alem das já mencionadas anteriormente a atualmente pouco acentuadas.

VI. Anaplasmas artificial (Acido pirogaico) Cão C. 7 kilos.

Dia 24–7–13. Inoculação subcutanea de 5 cc solução de acido pirogalico a 5%.

Dia 25–7–13. Idem, idem de 10 cc da mesma solução.

Dia 26–7–13. Idem, idem de 20 cc da mesma solução. O animala já apresenta no sangue alguns anaplasmas, algumas hematias nucleadas e globulps vermelhos dejcnerados.

Dia 27–7–13. Anemia profunda, grande dejeneração das hematias basofilia notavel assim como grandedecoramento das hemafias; muitas hematias nucleadas; anisocitosis, poiquilocitosis; numerosos aoaplasmas. O animal apresenta-se muito enfraquecido e com hemaglobinuria.

Dia 28–7–13. Morreu o animal. O sangue apresentava as mesmas alterações

nige nukleaere und noch wenigere Anaplasmen.

3–8–13–Erscheinen groessere Anzahl von Anaplasmen und nuklearen Haematien-

5–8–13—Zum groessten Teil grosse Anaplasmen, nukleaere Haematien, Basophilie.

6–8–13–Seltene Anaplasmen, einige nukleaere.

7–8–13–Da der Stand der Blutdegeneration derselbe bleibt, wird 1 cc. von 5–procentiger Purogallussaeureloesung inokuliert.

8–8—13–Da keine Aenderung im Blute eintritt, werden 2 cc. von 1–procetunger Saponinloesung inokuliert.

9–8–13—Das Tier stirbt mit deutlichen Zeichen von Anemie. Ausser den erwaehnten keine anderen Veraenderungen im Blute, und auch diese wenig akzentuiert.

VI. Kuenstlich erzeugte Anaplasmosis (Pyrogallusseeure). Hund B. 7 Kg.

24–7–13—Subkutane Inokulation von 5 cc. 5–procentiger Pyrogallussaeureloesung.

25–7–13–Idem 10 cc. derselben Loesung.

26–7–13–Idem 20 cc. derselben Loesung. Das Tier weist schon einige Anaplasmen, einige nukleaere Haematien und degenerierte rote Blutkoerperchen im Blute auf.

27–7–13—Schwere Anemie, starke Degeneration der Haematien, deutliche Basophilie und ausgepraegte Entfaerbung der Haematien; viele nukleaere Haematien; Anisochtosis, Poikyloscitosis; zahlreiche Anaplasmen. Das Tier zeigt grosse Schwaeche verbunden mit Haemoglobinurie.

28–7–13–Tod des Tieres. Das Blut zeigt die schon erwaehnten Veraenderungen Schwere anemische

acima citadas, lesões anemicas profundas. Ainda havia no sangue anaplasmas muito numerosos.

VII, Anaplasmose artificial. (*Trypanbau*)

Garrote 2. raça caracú, 1 1/2 anos de idade, nacido nas circumvisinhanças de Bello Horisonte. Serviu poucos mezes antes para o preparo de vacina antivariolica; nada apresentava no sangue na ocasião da experiencia.

Dia 29–8–13. Inoculação intravenosa de 1 1/2 grs. de *trypanblau* em 150 cc de agua distilada.

Dia 30–31–8. e 1, 2, 3, 4, 2, 6–13. Idem, idem. Até agora nenhuma alteração no sangue.

Dia 9–9–13. Idem, idem. Aparecem no sangue os primeiros anaplasmas, ainda muito raros.

Dia 10–9–13. Inoculação intravenosa de 1/1/2 grs. de *tripanblau* em 150 cc de agua distilada. Anaplasmas menos raros.

Dia 11 e–12–9–13. Inoculação diaria de 2 grs. de *trypanblau* em 150 cc de agua distilada.

Dia 16, 17, e 18–9–23. A dose de *trypanblau* é aumentada para 2 1/2 grs. diariamente na mesma quantidade de veiculo.

Dia 23–9–13. Inoculação de 3 grs. de *trypanblau*. O animal apresenta ainda um outro macro-ou microcito e raros anaplasmas.

Dia 24–9–13. Repete-se a inoculação com 3 1/2 grs. de *trypanblau*.

Dia 25–9–13. Numerosas hematias com granulações basofilas, algumas com dejeneração policromatofila não raras hematias nucleadas, rarissimos anaplasmas.

Dia 26—9–13. Inoculação intravenosa de 4 grs. de *trypanblau*.

Dia 27–9–13. Desaparecem as granulações basofilias e as hematias nucleadas, raros anaplasmas.

Lesionen. Im Blute noch immer sehr zahlreiche Anaplasmen.

VII. Kuenstlich erzeugte Anaplasmosis (Trypanblau).

Kalb 2, Caracurasse, 1 1/2 Jahr, aus der Umgebung von Bello-Horizonte. War wenige Monate vorhr zur Blatternvakzinebereitung gebraucht worden; wies keine Anomalien im Blute zur Zeit der Experimente auf.

29—8–13–Intravenoese Inokulation von 1,5 gr. von Trypanblau in 150 cc. distilliertem Wasser.

30 und 31 Aug. und 1, 2, 3, 4, 5, 6 Sept. 1913–Idem, idem. Bischer keine Veraenderung im Blute.

9–9–13–Idem, idem. Erscheinen der ersten sehr seltenen Anaplasmen im Blute.

10—9–13–Intravenoese Inokulation von 1,5 gr. Trypanblau in 150 cc. distillierten Wassers. Zahlreicheere Anaplasmen.

11 und 12 Sept. 1913—Taegliche Inokulation von 2 gr. Trypanblau in 150 cc. distillierten Wassers.

16, 17 u. 18. Sept. 1913—Die Dosis von Trypanblau wird and 2,5 gr. erhoeht bei derselben Menge distillierten Wassers.

23–9–13–Inokulation von 3 gr. Trypanblau. Das Tier weist einige Makro- oder Microzyten und sletene Anaplasmen auf.

24–9–13–Wiederholung der Inokulation mit 3,5 gr. Trypanblau.

25–9–13–Zahlreiche Haematien mit basophilen Granulationen, einige mit polychromatophilen Degeneration, und nicht wenige nukleaere Haematien, sehr seltene Anaplasmen.

26–9–13–Intravenoese Inokulation von 4 gr. Trypanblau.

27–9–13–Verschwinden der basophilen Granulationen und der nukleaeren Haematien. Seltene Anaplasmen.

Dia 20–9–13. O sangue do animal se apresenta como no dia anterior.

Dia 6–10–13. Nenhuma alteração muito notavel do sangue; até hoje continuam raros os anaplasmas. O animal se apresenta muito magro e enfraquecido.

Dia 15–10–13. O animal se acha em franco estado de cachexia. Os anaplasmas se tornam mais abundantes no sangue.

Dia 16–10–13. Os anaplasmas se tornam mais abundantes no sangue. O animal está cada vez mais enfraquecido.

Dia 17–10–13. O animal morreu hoje em pronunciada cachexia; a pele a as mucosas se acham intensamente coradas em azul. No sangue do coração havia anaplamas absolutamente identicos aos que se observam nos animais atacados de piroplasmose.

Manguinhos, 1 de Julho de 1914.

30—9–13–Das Blut ist wie em vorigen Tage.

6–10—13–Keine bedeutende Veraenderung im Blut, Anaplasmen noch immer selten. Das Tier weist grosse Magerkeit und Schwaeche auf.

15—10–13–Das Tier weist weit vorgeschrittene Kachexia auf. Die Anaplasmen werden zahlreicher im Blute.

16–10–13—Die Anaplasmen nehmen zu im Blute. Das Tier wird jeden Tag schwaecher.

17–10–13–Das Tier stirbt in tiefer Kachexie; die und die Schleimhaeute sind ausgesprochen blau gefaerbt. Im Herzblur finden sich Anaplasmen, die ganz identisch denen von Piroplasmen befallenen Tieren sind.

Manguinhos, den 1 Juli 1914.

Explicação das estampas.

Estampa 33.

Fig. 1. Anaplasmas naturais do boi (lamina enviada do Transvaal pelo DR. MITTCHELL.)

Fig. 2. Anaplasmas artificiais do boi (Garrote 2, envenenamento pelo *trypanblau.)*

Fig. 3· Anaplasmas artificiais do cão (Cão 8, envenenamento pela fenilhidrazina.)

Fig. 4. Anaplasmas artificiais do coelho (Coelho 8, envenenamento pelo nitrobenzol.)

Fig. 5. Anaplasmas artificiais da cobaia 4, envenenamento pela fenilhidrazina.)

— — —

Preparações fixadas pelo alcool metilico e coradas pelo Giemsa. Desenhos feitos á altura da mesa com a ocular compensadora nº 8 e a objetiva apocromatica 2 mm.

Estampa 34.

Fig. 1. Anaplasmas naturais do boi (lamina enviada do Transvaal pelo DR. MITTCHELL).

Fig 2. Anaplasmas artificiais da cobaia (Cobaia 4; envenenamento pela fenilhidrazina).

Fig. 3. Anaplasmas artificiais do coelho (Coelho 5; envenenamento pela fenilhidrazina).

Fig. 4. Anaplasmas artificiais do coelho (Coelho 7; envenenamento pelo nitrobenzol).

Fig. 5. Anaplasmas artificiais do cão (Cão 2; Envenenamento pelo nitrobenzol).

Fig. 6. Anaplasmas artificiais do ção (Cão C; Envenenamento pelo acido pirogalico).

Erklaerung der Tafeln.

Tafel 33

Fig. 1 Natuerliches Anaplasma des Rindes (von Herrn Dr. MITCHELL aus Transwaal erhaltenes Praeparat).

Fig. 2 Kuenstlich erzeugtes Rinderanaplasma (junger Ochse 2, Vergiftung durch Trypanblau).

Fig. 3 Kuenstlich erzeugtes Anaplasma beim Hunde (Hund 8, Vergiftung durch Phenylhydrazin).

Fig. 4 Kuenstlich erzeugtes Anaplasma beim Kaninchen (Kaninchen 7, Vergiftung durch Nitrobenzol).

Fig. 5 Kuenstlich erzeugtes Anaplasma beim Meerschweinchen (Meerschweinchen 4 Vergiftung durch Phenylhydrazin).

— — —

Durch Methylalkohol fixierte und nach Giemsa gefaerbte Praeparaten. Bei Tischhoehe gemachten Zeichnungen mit Hilfe der Kompensationsokular n. 8 und des apochromatischen 2mm.—Objektivs.

Tafe 34.

Fig. 1 Natuerliches Anaplasma der Rinder (von Herrn Dr. MITCHELL aus Transwaal erhaltenes Praeparat).

Fig. 2 Kuenstlich erzeugtes Anaplasma des Meerschweinchens (Meerschweinchen 4, Vergiftung durch Phenylhydrozin).

Fig. 3 Kuenstlich erzeugtes Anaplasma des Kaninchens (Kaninchen 5, Vergittung durch Phenylhydrazin).

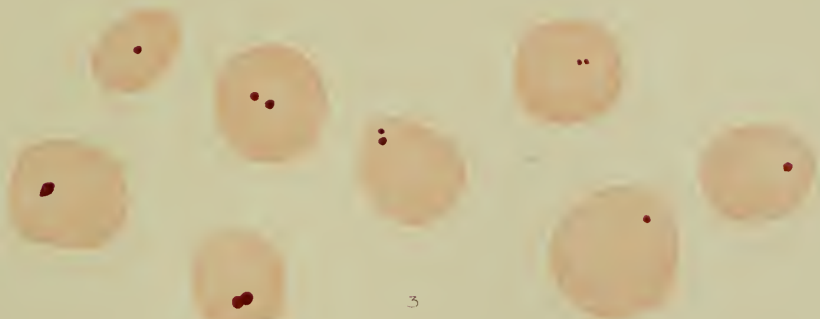
Fig. 4 Kuenstlich erzeugtes Anaplasma des Kaninchens (Kaninchen 7, Vergiftung durch Nitrobenzol).

Fig. 5 Kuenstlich erzeugtes Anaplasma des Hundes (Hund 2, Vergiftung durc Nitrobenzol).

Fig. 6 Kuenstlich erzeugtes Anaplasma des Hundes (Hund C), Vergiftung durch Pyrogallussaeure).

1

2

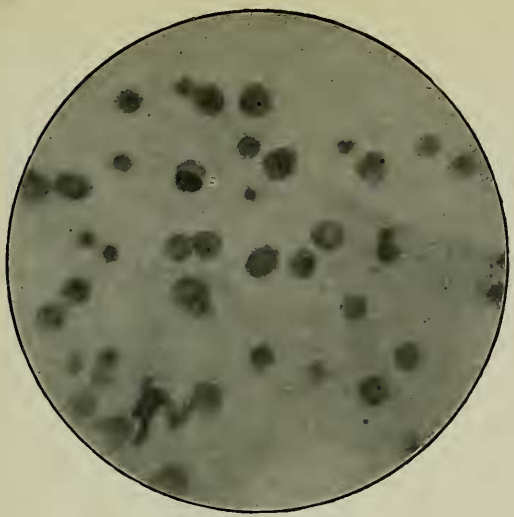


3

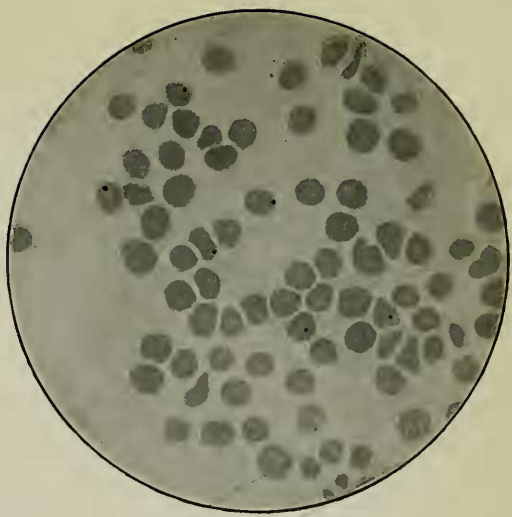
4

5

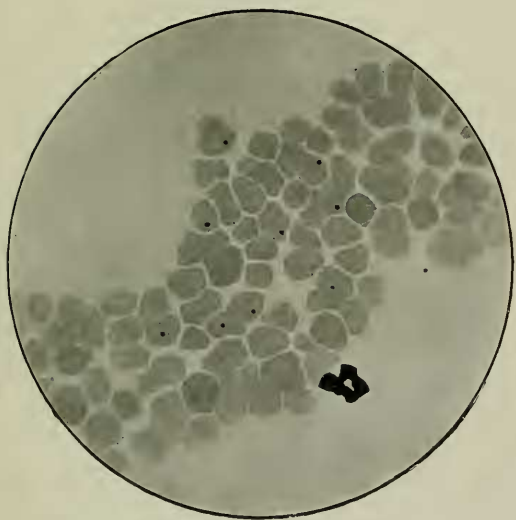
CastroSilva. del.



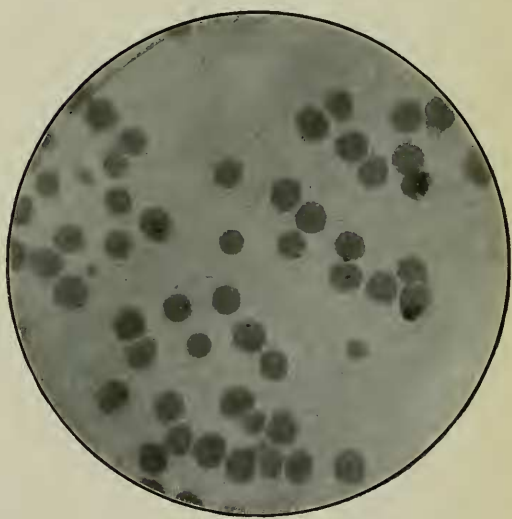
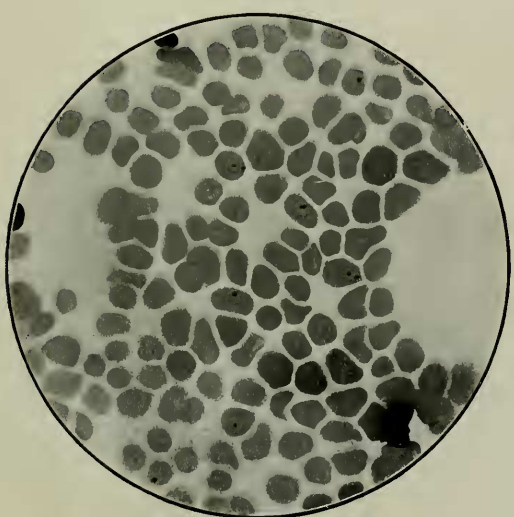
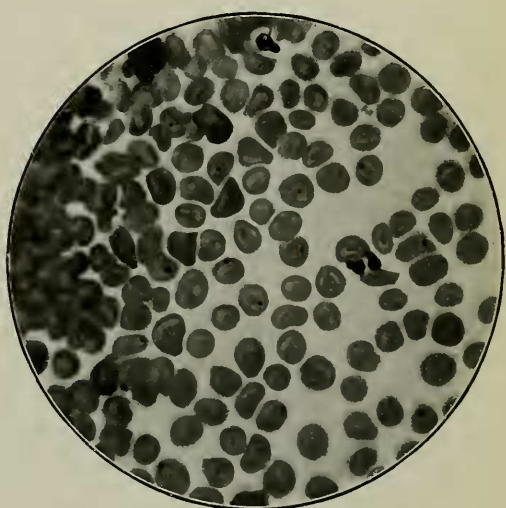
1



2



3



4